

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Justus Liebig - Hochschule zu Gießen
Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt

**Die Wirkung von Folsäure und Vitamin B 12
auf die experimentelle Bleianämie und die
Aderlaßanämie des Kaninchens**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig - Hochschule zu Gießen

vorgelegt von
Moses Boruchowicz
Tierarzt aus Hancewicze (Polen)

Gießen 1953

Aus dem Pharmakologischen Institut der Justus Liebig-Hochschule
zu Gießen

Direktor: Professor Dr. F. Hildebrandt

Die Wirkung von Folsäure und Vitamin B₁₂

=====

auf die experimentelle Bleianämie und die

=====

Aderlaßanämie des Kaninchens

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Veterinärmedizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Hochschule zu Gießen

von

Moses Boruchowicz

Tierarzt aus Hancowicze (Polen)

Gießen 1953

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinär-Medizinischen
Fakultät Gießen

Dekan: Professor Dr. H. K e l l e r

Referent: Professor Dr. F. H i l d e b r a n d t

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Mai 1953.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis.

	<u>Seite</u>
I. Einleitung	1
1. Zielsetzung der Arbeit	1
2. Allgemeines über die Blei- und Aderlaßanämie	1
II. Über die Bedeutung der Folsäure für die Blutbildung	4
III. Über die Bedeutung von Vitamin B 12 für die Blutbildung	5
IV. Beschreibung der Untersuchungsmethoden	6
1. Blutentnahme	6
2. Hb-Bestimmung	7
3. Zählung der Erythrozyten	8
4. Vitalfärbung der Reticulozyten und deren Zählung	9
V. Eigene Versuche	10
1. Versuchsanordnung für die erste Versuchsreihe und ermittelte Ergebnisse.	10
1a) Besprechung des Versuchsverlaufes bei Anwendung von Folsäure und Vitamin B 12	20
2. Versuchsanordnung für die zweite Versuchsreihe und ermittelte Ergebnisse	24
2a) Besprechung des Versuchsverlaufes bei Anwendung von Folsäure und Vitamin B 12	29
VI. Schlußfolgerungen aus den ermittelten Ergebnissen	
1. Bei der Bleianämie	30
2. Bei der Aderlaßanämie	32
VII. Zusammenfassung	33
VIII. Literaturverzeichnis	34
Lebenslauf	36

I. Einleitung

Zielsetzung der Arbeit und

Allgemeines über die Blei- und Aderlaßanämie.

Zweck meiner Untersuchungen war es festzustellen, ob die Bleianämie wirksam mit Folinsäure und Vitamin B 12 zu behandeln ist. Die Untersuchungen erstreckten sich darüber hinaus auch auf die Aderlaßanämie des Kaninchens. Die Behandlung der Bleianämie mit den genannten Substanzen erschien insofern besonders löhnend, als bisher nur wenig aufschlußreiche Untersuchungen aus der Literatur ersichtlich sind. H e s s e und F l ö t e r haben Kaninchen mit Bleiweiß anämisch gemacht und anschließend Folinsäure zugeführt. Sie stellten dabei fest, daß die mit Folinsäure behandelten Versuchstiere 30 Tage lang der Vergiftung standhielten, während die Tiere einer Kontrollgruppe ohne Folinsäure sämtlich starben. In der genannten Arbeit berichteten die Autoren über Behandlungserfolge mit Folsan bei bleivergifteten Menschen. Nachprüfungen dieser Versuche durch H e s s e und M a r q u a r d t lieferten keine volle Bestätigung der 1950 beobachteten Versuchsergebnisse. P r i b i l l a und A c h e n b a c h vermißten überhaupt einen Behandlungserfolg mit Folinsäure bei experimentell erzeugter Bleianämie des Kaninchens, und auch Cobalt blieb wirkungslos. G a r t a behandelte einen an Bleivergiftung erkrankten Menschen 35 Tage lang täglich mit 30 mg Folinsäure. Dabei nahmen die Blutkörperchenzahl und der Hämoglobinwert zu. Die Behandlung mußte wegen Stoffmangels unterbrochen werden, wodurch es nach einem Monat zu einem Rückfall kam. Als die Behandlung wieder eingeleitet wurde, war der Erfolg weniger gut. Da die Erfolgsaussichten einer Therapie für Bleianämie der Literatur zufolge, wie dargestellt, recht uneinheitlich sind, erschien die experimentelle Bearbeitung dieses Problems wichtig.

Bevor die Versuchsanordnung und die erzielten Versuchsergebnisse näher besprochen werden, soll mit einigen Worten auf die Pathogenese der Bleianämie und auf die Bedeutung der Folinsäure und des Vitamins B 12 für die Blutbildung eingegangen werden.

Die Toxizität von Blei und seiner Verbindungen ist schon von altersher bekannt. Bereits H i p p o k r a t e s hat eine ihrer Hauptsymptome, die Bleikolik, ausführlich beschrieben. Durch die zunehmende Verwendung von Blei in den verschiedensten Industriezweigen wurde eine Häufung der Vergiftungserscheinungen beobachtet. Durch Verbesserung der Fabrikationsbedingungen und durch Verhütungsmaßnahmen und ärztliche Überwachung der gefährdeten Personen wird das Vollbild der Bleivergiftung im Gegensatz zu früheren Jahrzehnten

jetzt allerdings nur selten beobachtet. Das Symptom, das in diesem Zusammenhang uns besonders zu beschäftigen hat, ist die Bleianämie. Sie ist für die Erkennung und Beurteilung des Schweregrades der Erkrankung von besonderer Wichtigkeit. Es besteht noch keine Klarheit, ob diese Anämie durch Hämolyse oder durch mangelhafte Blutbildung hervorgerufen wird. Wenn wir *Klima* und *Seyfried* folgen, so müßten wir annehmen, daß zunächst eine hämolytische Anämie besteht, zu der später Blutbildungsstörungen hinzukommen. *Garta* unterscheidet zwei Stadien im Verlauf der Bleianämie, nämlich

1. das Stadium zunehmender Hämolyse,
2. das Stadium der Reticulose bzw. Hypersplenie, das eine Abnahme der Knochenmarkfunktion zur Folge hat.

Als besonders charakteristisches Zeichen der Bleianämie wird die basophile Tüpfelung angesehen, die jedoch nicht pathognomisch für diese Anämieform ist, sondern auch bei Benzol- und Kohlenoxyd-Vergiftungen, bei nephrogenen Anämien und bei Anämien infolge von Infektions- und anderen Bluterkrankungen auftreten kann. Die Genese der Granulation ist noch unklar. Ist das Phänomen Zeichen einer Zellschädigung, oder handelt es sich um neu gebildete Zellen? Die Ansichten gehen heute im allgemeinen dahin, daß es sich bei den basophil punktierten Erythrocyten um den Ausdruck einer pathologischen Entwicklungsform handelt (*Humperdink*, *Rummel*). Sicher ist, daß die Punktierung schon im Mark entsteht. *Rosegger*, *Klima* und *Seyfried* fanden im Mark mehr basophil punktierte Zellen als im peripheren Blut. *Rosegger* bringt die Granula in enge Beziehungen zu der vitalfärbbaren Substanz und findet sie häufig mit Polychromasie und Vitalgranulierung vergesellschaftet. Es scheint ein gewisser Parallelismus zwischen der Zahl basophil getüpfelter Erythrocyten und dem Bleigehalt des Blutes zu bestehen. Als Zeichen eines pathologischen Hämoglobinabbaus infolge der Bleivergiftung wird bei den meisten Krankheitsbildern eine Porphyrinurie angetroffen. Bezüglich des Charakters der Anämie weist *Garta* darauf hin, daß entgegen der zumeist bestehenden Ansicht die Anämie nicht unbedingt mikrozytär hypochrom zu sein braucht, sondern nicht selten perniciosähnlich, makrozytär-hyperchrom ist. Der von ihm beschriebene Fall gehört zur letztgenannten Kategorie. Der Färbeindex betrug 1,15, etwas später sogar 1,24.

Um über die Blutregeneration unter therapeutischen Bedingungen Aufschluß zu gewinnen, ist es angezeigt, die Zahl der Reticulozyten laufend zu kontrollieren. In den Reticulozyten hat man jugendliche, noch nicht völlig ausgereifte Zellelemente vor sich (*Hirschfeld*, *Heilmeyer*).

Nach *Knoll* handelt es sich bei der Vitalgranulation um eine räumlich angeordnete Gerüststruktur, die während des ganzen Lebens der roten Blutzelle vorhanden ist und nur unter Bedingungen der Reifung als Netz er-

scheint. Die Vitalgranulation entspricht nach K n o l l der organischen Verbindung zwischen Kern und Zelleib. Im Knochenmark ist die Zahl der Reticulozyten wesentlich höher als im peripheren Blut, und die reiferen kernhaltigen Vorstufen der Erythrozyten sind alle vital granuliert. Daraus hat man mit Recht die Folgerung gezogen, daß die Reticulozyten ein normales Durchgangsstadium in der Entwicklung der roten Blutkörperchen darstellen und die vital granulierten Erythrozyten die jüngeren, erst kürzlich aus dem Knochenmark ausgeschwemmten roten Blutkörperchen sind. Die Normalzahl im Blut wird im allgemeinen mit 2 - 15 % angegeben. Die Reticulozytenzahl gibt uns ein Maß für die Neubildung der Erythrozyten. Kommt es zu einer abnorm starken Erythropoese, z.B. im Anschluß an eine starke Blutung, so steigt ihre Zahl erheblich an.

Nach S c h u l t e n ist es wahrscheinlich, daß alle Zellen das Knochenmark im vitalgranulierten Zustand verlassen und dann erst nach einigen Tagen in das völlig ausgereifte Stadium der nicht mehr vital granulierten Erythrozyten übergehen. Deshalb gibt der Prozentsatz der Reticulozyten einen Hinweis auf den Grad der Erythrozytenbildung und erlaubt bis zu einem gewissen Grade eine Prognosestellung bei Anämien.

Wie schon eingangs erwähnt, erstrecken sich die Untersuchungen auch auf die Behandlung der Aderlaßanämie mit Folsäure und Vitamin B 12. Jeder Blutverlust führt vorübergehend zu einer Anämie. Einmalige Blutverluste, die weniger als etwa die Hälfte der Gesamtblutmenge erreichen, werden vom sonst gesunden Organismus auffallend schnell wieder wettgemacht. Für das blutbildende Gewebe im Knochenmark ist der Blutverlust ein starker Anreiz zur Mehrarbeit. Sehr bald treten als Zeichen vermehrter Erythrozytenbildung vitalgranulierte, polychromatische, seltener kernhaltige Erythrozyten auf. Die Anämie tritt erst dann in Erscheinung, wenn durch Einstrom von Gewebsflüssigkeiten die zunächst verminderte Blutmenge aufgefüllt wird.

Der Verlauf der akuten Blutungsanämie hängt von der Regenerationsbereitschaft des Organismus ab. Diese ist ein Produkt zahlreicher Faktoren. Die ersten Erythrozyten werden aus dem Depot von Milz und Knochenmark in die Blutbahn geworfen. Dann beginnt die plastische Marktätigkeit. Besonders stürmisch verläuft die Regeneration des erythrozytären Systems. Im peripheren Blut tritt eine maximale Reticulozytenkrise ein. Sie bildet den Auftakt zum Anstieg des Hämoglobins und der Erythrozyten. Deshalb kann die Anzahl der Reticulozyten als Maß für die Güte und Schnelligkeit der Regeneration im allgemeinen angesehen werden.

II. Über die Bedeutung der Folinsäure für die Blutbildung.

sind wir durch Untersuchungen amerikanischer Autoren, die auf 1940 zurückgehen, unterrichtet. Auf Grund der ersten Quelle, aus der sie gewonnen wurde, erhielt sie ihren Namen "Blattsäure", obwohl sie auch in vielen tierischen Geweben vorkommt, besonders in der Niere und Leber, aber auch in niedrigeren Organismen, z.B. Hefe und Pilzen. Diese Säure ist ebenfalls ein sehr wirksamer Wachstumsfaktor für *Lactobacillus casei*. 1945 gelang es A n g i e r und Mitarbeitern, die Folinsäure zu synthetisieren. Sie wird heute ebenso wie eine Reihe anderer Stoffe mit ähnlichen biologischen Wirkungen als Teil des Vitamin B-Komplexes angesehen. Die Folinsäure ist eine N-4-(2-amino-4-hydroxy-6-pteridyl)-methylaminobenzoylglutaminsäure.

D a r b y, J o n e s und J o h n s o n (1946) meinen, daß der Bedarf des Menschen an Folinsäure täglich 0,1 - 0,2 mg beträgt. Sie wird durch Zufuhr mit der Nahrung und gleichfalls durch die Synthese mit Hilfe der Darmbakterien gebildet. Wenn diese natürliche Quelle unter den Bedingungen des normalen physiologischen Gleichgewichts genügt, so gilt das jedoch nicht bei gewissen pathologischen Verhältnissen. So ist der Folinsäure-Mangel offenbar bei der Entstehung gewisser Bluterkrankungen beteiligt. Die Folinsäure ist nicht identisch mit dem Extrinsic-Faktor des Antiperniciosa-Prinzipes der Leberpräparate. Der Wirkungsmechanismus der Folinsäure ist noch nicht ganz aufgeklärt. Die außerordentlich hohen Werte bei der Reticulozytenkrise nach Folinsäuregaben berechtigen zu der Annahme, daß wir es hier mit einer über die reine Leberwirkung hinausgehenden Reizwirkung auf die unreifen Knochenmarkelemente zu tun haben, wie sie sonst durch schwerste Blutverluste und hämolytische Krisen ausgelöst wird. D o a n sieht in der Folinsäure ein fundamentales Prinzip für den normalen Stoffwechsel aller Knochenmarkzellen sowie der jugendlichen und wachsenden Gewebe überhaupt. Bei Fehlen der Folinsäure erfolgt eine Entgleisung der normoblastischen Blutbildung zu den megaloblastischen Formen. Nach S c h u l t e n und P r i b i l l a ist die Folinsäure infolge einer enzymatischen Wirkung im Nukleinsäure-Stoffwechsel der Zellen unentbehrlich für die normale Zellreifung. Wachsende rote Zellen, denen dieser Stoff fehlt, werden größer als normale. So ist die Makrozytose des Blutes häufig Folge eines Folinsäuremangels. Der Makrozytose des Blutes entspricht oft eine mehr oder weniger starke megaloblastische Umwandlung des Knochenmarks. Nur wenn diese beiden Veränderungen vorhanden sind, soll ein Erfolg der Folinsäuretherapie zu erwarten sein. So ist Folinsäure wirksam bei perniziöser Anämie, bei ernährungsbedingten makrozytären Anämien und bei

makrozytären Schwangerschaftsanämien.

III. Über die Bedeutung des Vitamin B 12 für die Blutbildung

sei folgendes angeführt: Die Entdecker der Lebertherapie waren der Meinung, daß in der Leber noch ein Faktor vorhanden sein muß, welcher das Weiterdifferenzieren der unreifen Erythrozyten-Vorstufen im Knochenmark bewirke. Dieser Faktor aber blieb lange Zeit unbekannt. Alles sprach aber dafür, daß es sich um einen Katalysator handelt; damit stand dieser Stoff den Vitaminen und Hormonen nahe. 1948 gelang R i c k e s, B r i n k, W o o d und F o l k e s die kristallinische Darstellung dieses Vitamins. Wenige Wochen darauf berichteten die englischen Chemiker S m i t h und Mitarbeiter über einen ebenfalls hochwirksamen Leberstoff. Er erwies sich als identisch mit dem Vitamin B 12 der Amerikaner. Ob das Vitamin B 12 der einzige, in der Leber enthaltene erythropoetisch wirksame Faktor ist, kann bisher noch nicht entschieden werden. Die Untersuchungen haben ergeben, daß das rote kristallinische Vitamin B 12 4 % Cobalt enthält. Außerdem enthält das B 12-Molekül Phosphor und Stickstoff. Nach T a u s k ist Vitamin B 12 ein großes Molekül, das nicht zu den Eiweißen gehört und auch nicht ohne weiteres in irgend eine andere Klasse von bekannten Verbindungen eingeteilt werden kann. Das Molekulargewicht beträgt mindestens 1300.

Das Vitamin B 12 ist wahrscheinlich der extrinsic-Faktor nach C a s t l e. Bei der Zufuhr B 12-haltiger Nahrungsmittel muß der intrinsic-Faktor des Magens hinzukommen, um eine Resorption des Vitamin B 12 zu gewährleisten. Parenteral dagegen ist reines Vitamin B 12 schon in kleinsten Dosen ohne intrinsic-Faktor voll wirksam. Nach T a u s k sieht es so aus, als ob das Vitamin B 12 sowohl auf den Titel Antiperniziosa-Prinzip, als auch auf den Titel extrinsic-Faktor Anspruch erheben kann, wobei es aber möglich ist, daß es seine Rechte auf beide Titel mit anderen Prätendenten teilen müssen. Das Vitamin B 12 nach Einspritzung in das Knochenmark eines Perniziosa-Patienten lokal ruft die typische Reifung der erythropoetischen Zellen hervor, noch bevor der Effekt anderswo wahrnehmbar wird. Man nimmt an, daß das Vitamin B 12 ein physiologischer Zellreifungsstoff innerhalb der Thymonucleinsäure-Synthese ist. Das Vitamin B 12 scheint auch insbesondere für die Synthese der Ribonucleoproteine in den Zellkernen notwendig zu sein. Auch hat B 12 noch eine Wirkung auf den Stoffwechsel der Tiere und ihr Wachstum. Nach C h a r k e y und D r i l l hat das Vitamin B 12 sehr wahrscheinlich Bedeutung für den Eiweißstoffwechsel, und vor allem für die Eiweißsynthese. Wenn

wir also das Vitamin B 12 als einen Katalysator des Eiweißstoffwechsels und der Eiweißsynthese ansehen, so erkennen wir, daß seine Wirkung auf die Blutbildung, insbesondere bei der perniziösen Anämie, einen Spezialfall der vielfältigen allgemeinen Wirkungen darstellt.

Außer bei der Perniziosa wirkt Vitamin B 12 auch bei anderen makrozytären Anämien, bei Sprue und makrozytären Ernährungsanämien, und ganz allgemein bei megalozytärer Anämie. Das Vitamin B 12 ist ein Stoff, der nicht nur für Menschen, sondern auch für Bakterien notwendig ist. So wie das auch mit anderen Vitaminen der Fall ist, gibt es Mikroorganismen, die dieses Vitamin brauchen, um wachsen zu können und andere, die es selbst synthetisieren können. Von großer praktischer Bedeutung war die Entdeckung, daß der Streptomyces griseus, der zur Herstellung von Streptomycin gebraucht wird, auch Vitamin B 12 bereitet. Alles kristallinische B 12, das verwendet wird, stammt aus den Streptomyces-Kulturen.

Wenn auch bei der Bleianämie die Zufuhr von Vitamin B 12 durch die Nahrung und die enterale bakterielle Synthese von Folinsäure in normaler Weise gewährleistet ist, so wäre es doch denkbar, daß durch eine Steigerung der Zufuhr eine Beeinflussung der Regenerationsgröße und -Schnelligkeit der Blutzellen auftritt. Wenn G a r t a außerdem Gründe zu der Annahme hat, daß das normal erzeugte und resorbierte C a s t l e'sche Prinzip bei der Bleivergiftung in einer Weise geschädigt wird, die den Ablauf der normalen Hämpoese nicht mehr gewährleistet, so müßte erwartet werden können, daß durch Vitamin B 12 ein echter Mangelzustand behoben werden kann.

Bei schweren Blutungs-Anämien ist es denkbar, daß die Regeneration größere Mengen hämopoetisch wirksamer Substanzen notwendig macht, daß also die für die Konstanthaltung normaler Blutwerte ausreichend vorhandenen Substanzen in diesem Fall ungenügend sind.

IV. Beschreibung der einzelnen Untersuchungsmethoden.

1) Blutentnahme.

Das Kaninchen wird in einen extra für diesen Zweck gebauten Holzkasten gebracht, wo es sich nicht bewegen kann und nur der Kopf und die Ohren herausragen. Damit kann man ohne Schwierigkeiten die Blutentnahme und die intravenösen Injektionen durchführen.

Die Blutentnahme beim Kaninchen erfolgt aus der Ohrvene. Die ausgesuchte Stelle, nach der Ohrenspitze zu, wird geschoren, bis die unten verlaufende Vene gut sichtbar ist. Dann erfolgt Abreiben mit Xylol. Durch Wärme

wirkung einer Lampe für ein paar Minuten werden die Ohrvenen prall mit Blut gefüllt. Anschließend wird die gut gefüllte Vene mit einer Nadel angestochen. Der austretende Blutstropfen wird sofort mittels einer Pipette aufgesogen für die Hämoglobinbestimmung und Zählung der roten Blutkörperchen. Ein weiterer Tropfen wird auf dem Objektträger ausgestrichen für die Reticulozytenfärbung und -zählung. Die Verwertung von Blutstropfen muß sehr schnell erfolgen, sonst kommt es zur Gerinnung, und der ganze Vorgang muß wiederholt werden.

2) Hämoglobinbestimmung.

Die Hämoglobinbestimmung wurde mit dem Leitz-Kompensations-Photometer von horizontaler Bauart durchgeführt. Der besondere Vorteil der photometrischen Methode gegenüber der kolorimetrischen ist durch die Tatsache gegeben, daß zur Konzentrationsbestimmung keine Vergleichslösung benötigt wird. Die Konzentration wird vielmehr durch eine Absolutmessung des Extinktionsmodus in einem passend gewählten Spektralbereich bestimmt. Die Monochromatisierung des Lichtes geschieht durch Spektralfilter mit einem engen Durchlaßbereich. Der horizontale Aufbau des neuen Kompensations-Photometers ermöglicht eine sehr bequeme Bedienungsweise. Zur Durchführung der Messungen bedarf es keines verdunkelten Raumes. Es genügt in der Regel, allzu grelle Beleuchtung zu vermeiden.

Reagentien:

1) 0,1 %ige Sodalösung (aus wasserfreiem Natriumkarbonat)

2) Natriumhydrosulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) pro analysi.

Bestimmung: Mittels Kapillar-Pipetten nach B ü r k e r pipettiert man 2475 cmm 0,1 %ige Sodalösung in ein Rundkölbchen, gibt 25 cmm des aus der Ohrvene entnommenen Blutes hinzu und spült die Pipette durch wiederholtes Aufsaugen und Ausblasen gründlich aus. Die Abmessung der Verdünnungsflüssigkeit erfolgt in der Weise, daß man mit der Spitze der Pipette für 2475 cmm in die in 100 g-Fläschchen befindliche Sodalösung eingeht, die Lösung bis zur Ringmarke saugt, etwa in der Umgebung der Spitze befindliche, außen anhaftende Lösung abwischt, sodann mit der Spitze in das Rundkölbchen eingeht, sie leicht an die Glaswand lehnt und die Sodalösung durch Lüftung des Daumens langsam einfließen läßt. Durch Ausblasen und Abstreifen befördert man die letzten Reste von Lösung in das Kölbchen.

Zur Abmessung des Blutes wird die Pipette mitten in den Tropfen gehalten und das Blut so aufgesaugt, bis der Meniscus in die ebene Ringmarke hineinfällt. Dann wird die Spitze der Pipette mit dem fäserchenfreien Leinentuch von etwa außen anhaftendem Blut befreit, ohne die Öffnung selbst zu berühren. Nach dem richtigen Abmessen geht man mit der Spitze der Pipette in die in dem

Rundkölbchen befindliche Sodalösung ein, bläst dorthin das Blut aus, saugt von der noch nicht mit Blut durchmischten Sodalösung in die Pipette ein, bläst wieder aus, mischt Blut und Sodalösung durch passendes Schwenken. Sofort reinigt man die Pipette mehrmals mit destilliertem Wasser. Falls Fibrin ausgeschieden ist, muß man mit Schweineborste durchreinigen. Dann wird Alkohol mittels Wasserstrahlpumpe durchgesogen, anschließend Äther, am Schluß wird Luft durchgesaugt. Die Blutpipette muß schließlich lufttrocken sein. Der Kolbeninhalt wird sorgfältig durchgemischt. Man gibt eine Spatelspitze Natriumhydrosulfit hinzu und bringt das Salz durch leichtes Umschwenken in Lösung. Der Inhalt des Kölbchens wird in eine Horizontalkuvette von 0,5 cm Schichtdicke gegossen; die auf der anderen Seite stehende Kuvette von derselben Schichtdicke wird gefüllt nur mit 0,1 %iger Sodalösung und etwas Natriumhydrosulfit. Die Extinktion der Blutlösung wird mit Filter 550 gemessen. Im Okular erblickt man zwei halbkreisförmige Vergleichsfelder, deren vertikale Trennungslinie durch Drehen der Okularfassung scharf eingestellt werden kann. Der Drehwinkel wird an einer Skala abgelesen. An Hand einer Tabelle wird der Extinktionskoeffizient gefunden. Dieser Koeffizient $\times 13,9$ = gramm Hämoglobin in 100 ccm Blut.

3) Die Zählung der Erythrozyten.

Zur Zählung der Erythrozyten wird die von A b d e r h a l d e n angegebene Methode unter Verwendung des Z e i s s - T h o m a 'schen Zählapparates angewandt. Er besteht aus 2 Mischpipetten und einer Zählkammer. Die Mischpipette ist ein starkwandiges, unten zugespitztes Kapillarrohr, welches an seinem oberen Ende eine ampullenartige Erweiterung besitzt, in welcher sich eine bewegliche Glasperle befindet. Man saugt mit der entsprechenden Mischpipette Blut bis zur Marke 0,5, entfernt mit dem Finger etwaiges Blut von dem Ende der Mischpipette und saugt darauf von einer Verdünnungsflüssigkeit auf bis zur Marke 101, die oberhalb der ovoiden Erweiterung angebracht ist. Als Verdünnungsflüssigkeit wird H a y e m 'sches Reagens verwendet, welches die roten Blutkörperchen nicht verändert und folgende Zusammensetzung hat:

Hydrarg. bichlorat.	0,5
Natr.sulf.	5,0
Natr.chlorat	1,0
Aqua dest.	ad 200,0

Durch leichtes Schütteln etwa 1 - 2 Min. wird das Blut in der ovoiden Erweiterung gut verteilt. Die so gefüllte Mischpipette enthält Blut, welches 1:200 verdünnt ist. Die Zählkammer besteht aus einer Glasplatte von der Größe eines Objektträgers, auf die 2 Glasstreifen von genau 0,1 mm Dicke be-

festigt sind. Auf diese wird ein Glasplättchen aufgeschoben und evtl. durch Klammern fixiert. So entsteht ein Raum von 0,1 mm Höhe, in dessen Boden ein Quadratsystem bekannter Größe eingeritzt ist. Der kapilläre Spalt wird mit Blutverdünnung gefüllt und das Ganze unter das Mikroskop geschoben und mit mittlerer Vergrößerung betrachtet. Das Netzwerk des Thoma-Zeiss'schen Apparates besteht aus 16 großen Quadraten. Jedes große Quadrat ist in 60 kleine eingeteilt. Die Seitenlänge eines jeden Quadrates beträgt $1/20$ mm, demnach $1/400$ mm² Flächeninhalt. Da die Höhe der Blutschicht $1/10$ mm beträgt, so wird das Volumen der Blutschicht, das einem kleinen Quadrat entspricht, $1/4000$ mm³ sein. Da die Erythrozyten ungefärbt sind, muß gut abgeblendet werden. Es werden bei jeder Bestimmung 5 große, entsprechend 80 kleinen Quadraten ausgezählt. Die Berechnung der Erythrozyten pro mm³ geschieht in der Weise, daß man die durch das Auszählen von 80 kleinen bzw. 5 großen Quadraten ermittelten Erythrozyten mit 10 000 multipliziert. Diese Zahl entsteht aus folgender Berechnung: Der Raum über einem der kleinen auszuzählenden Quadrate beträgt $1/4000$ mm³, das ausgezählte Volumen also bei 80 Quadraten $80/4000 = 1/50$ mm³. 1 mm³ des verdünnten Blutes enthält somit 50 x und 1 mm³ Blut selbst, weil auf das 200-fache verdünnt wurde, $50 \times 200 = 10\,000$ mal so viel Blutkörperchen, als in 80 Quadraten gezählt worden ist.

4) Die Vitalfärbung der Reticulozyten und deren Zählung.

Die sogenannten Vitalfärbungen bezwecken eine Färbung des unfixierten, noch lebenden Blutes. In Wirklichkeit nehmen aber nur absterbende Zellen, also außerhalb der Gefäßbahn, den Farbstoff auf, ohne ihn zu verändern. Deswegen ist es zutreffender, hier von post- oder supravitalen Färbungen zu sprechen.

Die Objektträger sollen sauber und vor allem fettfrei sein. Man läßt sie 24 Stunden in Bichrom-Schwefelsäure liegen; dann werden sie in Wasser abgespült, abgetrocknet und für 12 Stunden in Ätheralkohol-Gemisch liegen gelassen, dann abgetrocknet; erst dann sind sie geeignet für die vitale Färbung. Es wird für diese Färbung die 1 %ige alkohol. Brillantkresylblau-Lösung verwendet. Mit dem gereinigten und sauberen Objektträger wird etwas Blut aus der angestochenen Ohrvene angestrichen; fernerhin kommt mit einer Pipette ein Tropfen der 1 %igen alkohol. Brillantkresylblau-Lösung auf den Objektträger. Blut und Farbstoff werden vermischt, dann mit der Kante eines geschliffenen Objektträgers oder Deckgläschens von dem Tropfen aus über den Objektträger gestrichen, so daß sich alles dünn wie ein feiner Film verteilt. Anschließend wird der Objektträger in eine feuchte Kammer, das ist eine Petrischale, die mit feuchtem Fließpapier ausgelegt ist, gelegt. Er wird da-

rin für die Dauer von ca. 20 Min. belassen. Nachher wird das Präparat mit Ölimmersion unter dem Mikroskop betrachtet, um eine Auszählung der vitalgranulierten Reticulozyten vorzunehmen.

Bei der Auszählung der Reticulozyten verkleinert man das Gesichtsfeld durch Einlegen einer kleinen Papierblende in das Okular, die nur ein wenig qmm großes Stück des Gesichtsfeldes freiläßt. Die Reticulozyten werden auf 1000 Erythrozyten ausgezählt, wobei die Reticulozyten mit eingerechnet werden.

V. Eigene Versuche

1. Die Versuchsanordnung für die 1. Versuchsreihe und ermittelte Ergebnisse.

Es wurde mir vom Direktor des Pharmakologischen Instituts der Justus Liebig-Hochschule, Professor Dr. H i l d e b r a n d t, wie schon betont, die Aufgabe erteilt, die Wirkung von Folinsäure und Vitamin B 12 bei Blei- und Aderlaßanämie zu verfolgen. Als Versuchstiere wurden Kaninchen verwendet. Die erste Versuchsreihe bestand aus 6 Kaninchen. Die Kaninchen waren alle weiblich; alle waren gesund und sehr lebhaft. Das Tierfutter bestand aus Hafer, Heu, Grünfutter und Runkelrüben und war stets reichlich bemessen. Die Kaninchen wurden mit Ohrmarken versehen mit den Nummern 1,2,4,5,6,16. Direkt vor dem Versuchsanfang zeigten sie folgende Gewichte:

Nr. 1	-	2450 g
Nr. 2	-	2550 g
Nr. 4	-	2250 g
Nr. 5	-	2550 g
Nr. 6	-	2450 g
Nr. 16	-	2300 g

Das zur Anämieerzeugung verwendete Blei wurde als Bleiacetat verabreicht, und zwar 6,4 mg/pro kg Körpergewicht. Diese Menge (6,4 mg) ist enthalten in 0,64 ccm Lösung und gemäß folgender Berechnung:

500 mg	Bleiacetat	wurde	gelöst	in	50 ccm	aq. bidest.
1000 mg	"	"	"	"	in	100 " " "
10 mg	"	"	"	"	in	1 " " "

also 6,4 mg Bleiacetat wurde gelöst in 0,64 " " "

Diese Menge 0,64 ccm jeweils multipliziert mit dem Kaninchengewicht ergibt die Menge der Bleiacetat-Zufuhr beim einzelnen Kaninchen. Die einzelnen Kaninchen erhielten folgende Mengen:

Nr. 1	-	1,56	ccm	Bleiacetat
Nr. 2	-	1,63	"	"
Nr. 4	-	1,44	"	"
Nr. 5	-	1,63	"	"
Nr. 6	-	1,56	"	"
Nr. 16	-	1,47	"	"

Die entsprechenden Mengen Bleiacetat wurden intravenös in die Ohrvene langsam injiziert. Es wurde an 3 Tagen hintereinander allen 6 Kaninchen Bleiacetat verabreicht in der gleichen Dosierung.

Am 4. Tag erhielten 2 Kaninchen, Nr. 4 und 5, in einmaliger Gabe Folinsäure, die Kaninchen Nr. 6 und 16 Vitamin B 12 (Rubivitan Bayer-Leverkusen). Die Kontrolltiere Nr. 1 und 2 erhielten nichts. Von der Folinsäure wurden 15 mg/pro kg Körpergewicht subkutan gespritzt. Diese Menge ist in 0,75 ccm Lösungsflüssigkeit, die folgendermaßen zubereitet wird, enthalten:

200 mg Folinsäure wurden in 8 ccm dest. Wasser gelöst. Um die Löslichkeit zu erhöhen, wurde etwas Natronlauge zugesetzt bis auf p_H 7,5, dann wird aufgefüllt mit dest. Wasser bis auf 10 ccm.

Also 200 mg Folinsäure ist in 10 ccm Lösung enthalten,

20 mg " " " " 1 ccm " " ,

" 15 mg " " " " 0,75 ccm " " .

Das Kaninchen Nr. 4 erhielt 1,6 ccm Folinsäure,

Nr. 5 " 1,8 " " " .

Das Kaninchen Nr. 6 erhielt Vitamin B 12, und zwar 20 μ /pro kg Körpergewicht subkutan. Die Ampulle enthielt in 1 ccm 15 μ Vitamin B 12. Nr. 6 erhielt dementsprechend 49 μ , d.h. 3,3 ccm Vitamin B 12. Das Kaninchen Nr. 16 ist aus-
geschieden.

Den Tieren wurde jeweils zweimal vor Versuchsbeginn und dann am Anfang täglich, jedoch später alle 2 bzw. 3 Tage Ohrvenenblut entnommen zur Hb-Bestimmung und zur Zählung der roten Blutkörperchen und der Reticulozyten nach den früher angegebenen Methoden. Vor Versuchsbeginn zeigten die Kaninchen folgende Normalwerte: Aus beiden Normalwerten vor der Untersuchung sei hier der Mittelwert angeben:

Nr. 1	Hb 12,26	Erythr. 5,8 Mill.	Retic. 10
Nr. 2	12,1	6,02 "	17
Nr. 4	12,25	6,56 "	14
Nr. 5	11,4	6,23 "	13
Nr. 6	11,8	5,92 "	13

Am 11. Tag nach der 1. Bleiacetat-Injektion erhielten alle 5 Kaninchen nochmals eine einmalige Injektion mit Bleiacetat dem Gewicht entsprechend. Die beiden Kaninchen Nr. 4 und 5 erhielten in den nächsten 3 aufeinander folgenden Tagen dem Gewicht entsprechend nach der oben angegebenen Norm Folinssäure, das Kaninchen Nr. 6 in 3 aufeinander folgenden Tagen Vitamin B 12. Nachdem das Kaninchen Nr. 6 nach zweimaliger Gabe von Bleiacetat schon am 3. Tag nach dem Versuchsanfang verendet war, bezog ich ein neues Kaninchen Nr. 7 ein mit dem Gewicht von 2.900 g und folgenden normalen Blutwerten:

Hb 12,19 Erythr. 5.44 Mill. Retic. 25

Eine Abweichung in der Versuchsanordnung bei diesem Kaninchen besteht darin, daß es am Anfang in drei aufeinander folgenden Tagen Bleiacetat bekommen hat und in den nächsten 3 Tagen Vitamin B 12, dem Körpergewicht entsprechend. Später dagegen im weiteren Versuchsverlauf wurde das Kaninchen nicht mehr mit Bleiazetat vorbehandelt, sondern es wurden nur die Blutwerte bestimmt. Außerdem habe ich noch ein Kontrolltier eingesetzt, Nr. 3, das nur in den drei aufeinander folgenden Tagen Bleiacetat erhielt. Anfangsgewicht 2.225 g, Blutbefund:

Hb 12,06 Erythr. 5,56 Mill. Retic. 24.

Wie schon vorher erwähnt, habe ich an allen Kaninchen nach dem Versuchsbeginn täglich bzw. alle 2-3 Tage und am Schlusse noch seltener einen eingehenden Blutbefund erhoben, und zwar Hb-Bestimmung, Erythrozyten-Zählung und Reticulozyten-Färbung und -Zählung.

Die folgenden Tabellen sollen den Verlauf der Blutwerte bei den einzelnen Kaninchen veranschaulichen.

Tabelle A

Bleianämie

Kontrolltier Nr. 1

	1	3	4	5	6	8	10	12	14	18	20	22	26	29	33	39	Tage
Hb.	12,26	8,22	8,21	8,22	9,42	9,2	9,34	9,56	9,42	9,73	11,28	12,4	12,42	12,62	12,62	12,62	gr
Ery.	5,80	4,17	3,62	3,88	4,09	3,56	3,67	3,45	3,31	3,79	4,64	4,52	5,32	4,91	4,91	5,13	Mill.

1
-3
1

	10	14	18	112	133	99	136	120	81	164	89	59	41	29	33	19
Ret.	10	14	18	112	133	99	136	120	81	164	89	59	41	29	33	19

in % umgerechnet

Hb.	100	67,4	66,9	67,4	76,8	75,8	76,1	78	76,7	79,3	92	101,1	101,1	103	103	103
Ery.	100	71,9	62,4	66,9	70,5	61,4	63,3	59,6	57	65,8	80	78,1	91,7	84,9	84,9	88,4

Fortsetzung von

Tabelle A

Bleianämie

Kontrolltiter Nr. 2

	1	3	4	5	6	8	10	12	14	18	20	22	26	29	33	39	Tage
Hb.	12,16	7,78	7,03	6,64	6,97	7,5	8,89	8,95	7,86	9,50	11,2	11,4	11,62	12,06	12,14	11,98	gr
Ery.	6,02	3,24	3,21	2,78	3,15	2,98	3,27	3,20	3,07	3,52	4,01	4,33	4,92	4,87	4,28	4,82	Mill.
Ret.	17	23	31	42	117	112	138	105	89	114	70	52	44	25	29	20	
in % umgerechnet																	
Hb.	100	63,9	57,8	54,6	57,3	51,6	73,1	73,6	64,6	78,1	92,1	93,7	95,5	99,1	99,8	99,5	
Ery.	100	53,8	53,3	46,1	52,3	49,5	54,4	53,1	50,9	58,4	66,6	71,9	81,7	80,8	71	80	

Fortsetzung von Tabelle A

Bleianämie

Kontrolltier Nr. 3

	1	3	7	9	11	15	17	22	28	Tage
Hb.	12,06	9,11	7,22	9,11	9,34	10,53	10,53	10,95	12,31	
Ery.	5,56	3,39	2,84	3,34	3,27	3,29	3,89	4,80	4,77	
Ret.	24	19	146	68	124	83	85	51	35	

in % umgerechnet

Hb.	100	75,5	59,8	75,5	77,5	87,3	87,3	90,8	102	
Ery.	100	60,9	51	60	58,9	59	70	68,3	85,8	

Tabelle B

Bleianämie

Mit Folin säure behandeltes Tier Nr. 4

Tage

1 3 4 5 6 8 10 12 13 17 19 21 25 27 31 34 39

Hb. 12,25 8,61 8,08 8,45 7,72 9,11 9,34 9,73 10,4 9,81 10,53 10,86 11,81 11,73 12,14 12,25 12,78

Ery. 6,16 4,13 4,43 4,02 4,28 4,42 4,09 3,76 3,18 3,95 3,81 3,97 4,81 5,63 5,85 5,68 5,99

Ret. 14 13 14 21 25 103 132 85 109 102 112 86 42 47 22 21 20

in % umgerechnet

Hb. 100 70,3 65,8 68,9 63 74,3 76,3 79,5 85,6 80,9 86 88,8 96,4 95,7 99,1 100 105

Ery. 100 67,3 71,9 65,2 69,5 71,8 66,4 61 51,7 64,1 61,7 64,4 78,1 91,4 94,9 92,2 98,2

Fortsetzung von

Tabelle B

Bleianämie

Mit Folinssäure behandeltes Tier Nr. 5

	1	3	4	5	6	8	10	12	13	17	19	21	25	27	31	34	39	Tage
Hb.	11,9	8,28	8,36	8,67	7,64	9,64	9,81	9,89	9,81	9,50	10,61	11,37	12,25	12,14	11,98	12,42	12,3	
Ery.	6,03	4,40	4,01	3,79	3,87	4,02	4,13	3,14	3,64	3,66	4,02	4,45	5,17	5,53	6,01	5,89	5,93	
Ret.	13	14	18	26	29	105	148	105	103	174	83	90	34	34	32	29	18	
in % umgerechnet																		
Hb.	100	69,5	70,2	72,9	64,2	81,2	82,4	83,1	82,4	80	89	95,6	102,9	100,5	100	104,3	103,3	
Ery.	100	72,9	66,5	62,9	64,2	66,6	68,5	52,1	60,3	60,8	66,6	73,8	85,7	91,7	99,6	97,6	98,3	

Tabelle C

Bleianämie

Mit Vitamin B₁₂ behandeltes Tier Nr. 6

Tage

	1	3	4	5	6	8	10	12	14	18	20	22	26	29	34	39
--	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Hb. 11,8 7,31 6,9 6,64 7,86 8,50 8,81 9,56 8,50 9,64 10,78 11,73 11,81 12,25 12,34 12,39

Ery. 5,92 4,05 3,23 3,22 3,53 3,29 3,66 3,24 3,22 3,59 4,36 4,94 5,84 5,43 5,47 5,92

Ret 13 17 18 39 62 235 101 104 106 135 90 58 44 33 26 23

in % umgerechnet

Hb. 100 61,9 58,5 56,3 66,6 72 74,6 81 72 81,7 91,3 99,4 100 103,8 104,5 105

Ery. 100 68,4 54,6 54,4 59,6 55,6 61,8 54,9 54,4 60,6 73,6 83,4 98,6 91,7 92,4 100

Fortsetzung von

Tabelle C

Bleianämie

Mit Vitamin B₁₂ behandeltes Tier Nr. 7

	1	3	5	8	10	14	22	31	34	Tage
Hb.	12,19	8,67	8,72	7,72	7,92	8,72	10,45	11,50	12,32	
Ery.	5,44	3,33	3,02	2,85	3,05	3,77	4,34	5,18	5,37	
Ret.	25	32	152	123	122	87	44	30	27	
	in % umgerechnet									
Hb.	100	71,1	71,5	63,3	64,9	71,5	85,7	94,3	101	
Ery.	100	61,2	55,5	52,3	55,6	69,3	79,7	95,2	98,7	

1a. Besprechung des Versuchsverlaufes bei Anwendung von Folinsäure und
Vitamin B 12.

Kontrolltiere.

Bei 3 Kaninchen wurde in der bereits besprochenen Weise an je 3 aufeinander folgenden Tagen Bleiacetat intravenös zugeführt. Durch laufende Kontrolle des Blutstatus konnte dabei festgestellt werden, welche hämatologischen Veränderungen im Regelfall auftreten. Über die genannten Werte, die ermittelt wurden, geben die beigefügten Tabellen Aufschluß, auf die bezüglich der Einzelheiten verwiesen werden kann. Wir entnehmen diesen Tabellen, daß bei dem

Versuchstier Nr. 1

bereits nach der ersten Injektion ein erheblicher Hämoglobinabfall auftritt, der nach den beiden nachfolgenden Bleiinjektionen ein Gesamtausmaß um 33,1 erreichte. Der Tiefstwert wurde am 4. Versuchstag beobachtet. Auch die Erythrozytenzahl sank laufend ab. Der Tiefstwert wurde jedoch erst am 8. Tag erreicht, der prozentuale Abfall betrug 38,6 %. Während der Hämoglobinwert 6 Tage nach der ersten Injektion um etwa 10 % über dem Tiefstwert lag und von da ab eine langsame Aufwärtsentwicklung zeigte, ging die Normalisierungstendenz der Erythrozytenzahl wesentlich langsamer vonstatten. Eine abermalige Bleiacetat-Injektion am 11. Untersuchungstag führte zu einer flüchtigen Depression der Hämoglobin- und Erythrozyten-Kurve, die jedoch rasch wieder eine aufsteigende Tendenz aufwies. Der Ausgangswert des Hämoglobins war bereits nach 22 Tagen wieder erreicht. Die vor Versuchsbeginn festgestellte Erythrozytenzahl war noch bis zum 39. Tag nicht wieder erreicht. Der Endwert betrug 5,13 Mill. gegenüber 5,8 Mill. vor Beginn der Untersuchung.

Die Reticulozyten-Kurve zeigte charakteristischerweise einen gegensinnigen Verlauf. Ausgehend von einer Zahl von 10 % kam es rasch zu einem Anstieg auf 133 % am 6. Versuchstag. Nach gewissen Schwankungen um diesen Wert wurde schließlich am 18. Versuchstag mit 164 % der Gipfel der Kurve erreicht. Von da ab fiel diese wieder langsam ab und erreichte am 39. Versuchstag den Wert von 19 %.

Bei dem

Versuchstier Nr. 2,

bei dem die gleiche Versuchsanordnung bestand, sind die Verhältnisse ziemlich identisch mit dem Versuchsverlauf, der vorher skizziert wurde. Auch hier sehen wir einen erheblichen Abfall des Hämoglobinwertes, der sogar den bei dem Versuchstier Nr. 1 noch überschreitet, und zwar sank nach 3

Bleiinjektionen der Hb-Wert um 45,4 % am 5. Versuchstag.

Auch hier ging die Hämoglobin-Normalisierung verhältnismäßig rasch vonstatten, verglichen mit der Zunahme der Erythrozytenzahl. Deren tiefster Wert wurde gleichfalls am 5. Untersuchungstag registriert. Die prozentuale Abnahme betrug bis zu diesem Tag 53,9 %. Nach einer gleichfalls am 11. Tag durchgeführten Bleiinjektion kam es zu einer flüchtigen Hämoglobin- und Erythrozytenminderung, nach der ebenfalls wieder eine ansteigende Tendenz der Hämoglobin- und Erythrozyten-Kurve festzustellen war. Am 33. Untersuchungstag war der Hb-Ausgangswert mit 99,8 % annähernd erreicht. Die Erythrozytenzahl stieg jedoch nur bis auf 4,82 Mill. am 39. Untersuchungstag gegenüber 6,02 Mill. vor Versuchsbeginn an. Ähnlich wie beim Versuchstier Nr. 1 verläuft die Reticulozyten-Kurve. Von 17 % wurde ein Anstieg auf 138 % am 10. Versuchstag festgestellt. Nach vorübergehendem leichtem Abfall der Kurve nach der erneuten Bleiinjektion wurde am 18. Tag der Wert von 114 % festgestellt. Danach näherte sich die Reticulozytenzahl langsam wieder dem Ausgangswert. Am 39. Versuchstag betrug die Zahl 20 %.

Bei dem

Versuchstier Nr. 3

wurde lediglich an 3 aufeinander folgenden Tagen Bleiacetat injiziert. Von der abermaligen Injektion am 11. Versuchstag wurde hier Abstand genommen. Der tiefste Hb-Wert wurde am 7. Versuchstag registriert. Der prozentuale Hb-Abfall betrug bis zum 7. Tag um 40,2 %, von da an kontinuierlicher rascher Hb-Anstieg. Der Ausgangswert war am 28. Versuchstag wieder erreicht (102 %).

Auch hier wieder prompter Abfall der Erythrozyten um 49 %. Von dem 7. Versuchstag an allmählicher, aber weniger rascher Anstieg der Erythrozytenkurve, die am 22. Tag mit 4,8 Mill. ihren Höchstwert erreichte, aber am 28. Untersuchungstag immer noch unter dem Ausgangsniveau von 5,56 Mill. lag (4,77 Mill.).

Die Reticulozyten-Kurve verhielt sich so wie bei den Kontrolltieren 1 und 2. Ausgangswert 24 %, Höchstzahl am 7. Untersuchungstag mit 146 %. Von da ab langsamer Abfall bis auf 35 % am 28. Untersuchungstag. Da die einmalige nachfolgende Bleiinjektion bei diesem Tier nicht vorgenommen wurde, kam es nicht zu der flüchtigen Depression der Hb- und Erythrozyten-Kurve, die wir bei den beiden anderen Kontrolltieren beobachteten.

Versuche mit Folsäure bei Bleianämie.

Bei 2 Versuchstieren wurde in der gleichen Weise Bleiacetat verabreicht, und zwar jeweils eine Injektion am 1., 2., 3. und 11. Versuchstag, während am 4., 12., 13. und 14. Versuchstag Folsäure in der vorher angegebenen Do-

sierung verabreicht wurde.

Bei

Versuchstier Nr. 4

beträgt der maximale prozentuale Hb-Abfall 37 %; der Tiefstwert wurde am 6. Versuchstag erreicht. Von da ab kontinuierlicher, verhältnismäßig rascher Anstieg von Hämoglobin mit Erreichen des Ausgangswertes am 34. Tag.

Die Erythrozytenzahl sank bis zum 5. Tag um 34,8 % ab. Nach geringfügigem Anstieg der Erythrozytenkurve erfolgte eine abermalige Depression, die ihr Maximum am 13. Untersuchungstag, d.h. also 2 Tage nach der erneuten Bleiinjektion, erreichte. Die prozentuale maximale Abweichung vom Ausgangswert betrug 48,3 %. Von da ab kontinuierlicher Kurvenanstieg. Am 39. Tag wurde als Höchstwert die Zahl 5,99 Mill. gezählt, gegenüber 6,16 Mill. vor Versuchsbeginn.

Die Reticulozyten stiegen von 14 % bis zum 6. Versuchstag langsam an, ihre Zahl erreichte rasch bis zum 10. Versuchstag 132 %. Nach Bleiinjektion am 11. Tag vorübergehender Abfall auf 85 %. Nach vorübergehendem Anstieg allmählicher Abfall auf 20 % am 39. Tag.

Beim

Versuchstier Nr. 5

entsprach die Versuchsanordnung der beim Versuchstier Nr. 4. Der größte prozentuale Hb-Abfall war am 6. Versuchstag mit 35,8 % erreicht. Dann kam es zu einem verhältnismäßig raschen Hämoglobinanstieg, der auch durch eine Bleiinjektion am 11. Tag nicht sicher unterbrochen, sondern höchstens verlangsamt wurde. Vom 17. Versuchstag an ging die Hb-Zunahme dann rasch vonstatten. Am 25. Tag war der Ausgangswert bereits erreicht bzw. leicht überschritten. Er lag am 39. Tag mit 3,3 % über dem Wert vor Versuchsbeginn.

Die Erythrozytenzahl sank nach den 3 aufeinander folgenden Bleiinjektionen um 37,1 % am 5. Versuchstag ab, und nach leichtem Anstieg wurde ein abermaliger Abfall im Anschluß an die nachfolgende Bleiinjektion festgestellt, wobei die maximale Abweichung gegenüber dem Ausgangswert an diesem Tag 47,9 % betrug. Von da ab kontinuierlicher Anstieg der Erythrozyten, deren höchster Wert am 31. Versuchstag mit 6,01 Mill. gegenüber 6,03 Mill. vor Versuchsbeginn betrug. Am 39. Untersuchungstag war die Erythrozytenzahl 5,93 Mill.

Die Reticulozytenzahl stieg von 13 % auf 148 % am 10. Tag an, sank nach der Bleiinjektion am 11. Tag auf 103 % ab, erreichte mit 174 % am 17. Tag ihr Maximum und ging dann langsam bis auf 18 % am 39. Tag kontinuierlich wieder zurück.

Versuche mit Vitamin B 12 bei Bleianämie.

Bei einem Versuchstier, Nr. 6, wurde ebenfalls an 3 aufeinander folgenden Tagen je eine Bleiinjektion, eine weitere am 11. Untersuchungstag durchgeführt. Am 4., 12., 13. und 14. Tag wurde Vitamin B 12 in der vorher angegebenen Menge verabreicht. Bei einem weiteren Versuchstier, Nr. 7, wurde am 1., 2. und 3. Tag Bleiacetat, am 4., 5. und 6. Tag Vitamin B 12 gegeben.

Beim

Versuchstier Nr. 6

sank der Hb-Wert um 43,7 % bis zum 5. Versuchstag ab. Vom 5. Tage an rascher Anstieg des Hb-Wertes auf 80 % des Ausgangswertes. Offenbar unter dem Einfluß der abermaligen Bleiinjektion trat ein vorübergehender Abfall um 28 % ein. Vom 14. Versuchstag an steigt die Hb-Kurve rasch kontinuierlich an. Der Ausgangswert von 100 % ist am 26. Tag erreicht.

Die Erythrozyten sanken um 45,6 % innerhalb von 5 Tagen ab. Nach geringfügigem vorübergehendem Anstieg trat nach Bleiinjektion am 11. Tag wiederum ein Abfall auf, der ebenfalls eine Differenz von 45,6 % gegenüber dem Ausgangswert darstellte. In der Folgezeit kontinuierlicher Anstieg der Erythrozyten auf 5,84 Mill. Der Ausgangswert von 5,92 Mill. wurde am 39. Untersuchungstag wieder erreicht.

Die Reticulozyten stiegen innerhalb von 8 Tagen rasch von 13 % auf 235 % an. Am 10. Tag betrug die Reticulozytenzahl 101 %, erreichte am 18. Tag den Wert von 135 % und sank dann allmählich auf 23 % am 39. Untersuchungstag ab.

Beim

Versuchstier Nr. 7

kam es zu einem Hb-Abfall von 36,7 % innerhalb 8 Tagen. Von da ab tritt wieder ein kontinuierlicher Anstieg des Hämoglobins auf, das am 34. Tag mit 101 % den Ausgangswert erreichte bzw. etwas überschritt.

Die Erythrozytenkurve sank innerhalb von 8 Tagen um 47,7 % und stieg von da ab allmählich wieder an, und am 34. Behandlungstag betrug die Erythrozytenzahl 5,37 Mill. gegenüber 5,44 Mill. vor Versuchsbeginn.

Die Reticulozyten stiegen von 25 % bis zum 3. Tag allmählich, dann rasch bis 152 % am 5. Versuchstag an. Die Reticulozytenkurve zeigte von da ab einen allmählichen kontinuierlichen Abfall. Am 34. Versuchstag betrug die Reticulozytenzahl 37 %.

2. Die Versuchsanordnung für die 2. Versuchsreihe und ermittelte Ergebnisse.

Es wurden hier Versuche durchgeführt, die die Wirkung der Folinsäure und des Vitamins B 12 auf eine Aderlaßanämie aufzeigen sollten. Als Versuchstiere wurden ebenfalls Kaninchen verwendet. Die 3 Kaninchen waren alle weiblich und gesund. Das Tierfutter bestand aus Hafer, Heu und Dickwurz und war stets reichlich bemessen. Die Kaninchen wurden mit Ohrmarken versehen, und zwar Nr. 8, 9, 10. Vor dem Versuchsanfang zeigten sie folgende Gewichte:

Nr. 8 - 2075 g

Nr. 9 - 2900 g

Nr. 10 - 2575 g

und folgende normale Blutbilder, die den Mittelwert darstellen aus 2 Messungen an den letzten beiden Tagen vor dem Versuch:

Nr. 8	Hb. 12,71	Ery. 5,94 Mill.	Reti. 24
Nr. 9	12,33	5,30 "	27
Nr. 10	12,89	5,92 "	23

Blutentnahme: Es wurde eine Infiltrations-Anästhesie aus 0,5 %igem Novocain in der Carotis-Gegend vorgenommen. 1 ccm enthält 0,005 g Novocain und 0,000,005 g Suprarenin. 1,5 ccm wurden gespritzt. Es bedarf einer Zeit von etwa 15 Min., bis die Wirkung eingetreten ist. Inzwischen wurde das Tier an allen 4 Beinen am Brett befestigt, das extra zu diesem Zweck gebaut ist. Auch der Kopf wurde mit einer speziellen Vorrichtung unbeweglich gemacht. Nach einem kurzen Hautschnitt wird die Carotis rechterseits freigelegt durch vorsichtiges Präparieren, sodann wird sie gehirnwärts mit einem Faden abgebunden. Dann wird eine Glaskanüle in die rechtsseitige Arteria carotis hereingeschoben und befestigt. Jetzt kann das Blut durch die Kanüle in den mit ihm verbundenen Schlauch direkt in den Meßzylinder abfließen.

Von der Gesamtblutmenge, die etwa 7 % des Körpergewichtes ausmacht, wurde ein Drittel durch den Aderlaß entzogen, und zwar:

Kaninchen Nr. 8 Gewicht 2.075 g
Gesamtblutmenge: 145,2 ccm
entzogen: 48 ccm

Nr. 9 Gewicht 2.900 g
Gesamtblutmenge: 203 ccm
entzogen: 68 ccm

Kaninchen Nr. 10 Gewicht 2.575 g
Gesamtblutmenge: 180 cm
entzogen: 60 ccm

Nach der vorgenommenen Operation, bei der diese angegebenen Mengen Blut entzogen worden sind, wurde die Carotis abgebunden, die Wunde mit Marfanil-Prontalbin-Puder behandelt und zugenäht. Die Wundränder wurden noch mit Jod bestrichen.

Sofort danach erhielten alle 3 Kaninchen 0,5 ccm Ferronascin in die Ohrvene langsam injiziert. 1 Ampulle von 2 ccm enthält 0,02 g Eisen. Außerdem erhielt Kaninchen Nr. 9 Folinsäure, und zwar 15 mg pro kg Körpergewicht, insgesamt 2,1 ccm Folinsäure, zubereitet nach derselben Art, wie bei der ersten Versuchsanordnungsreihe angegeben. Das Kaninchen Nr. 10 erhielt Vitamin B 12, und zwar 20 γ pro kg Körpergewicht, insgesamt 3,4 ccm Rubivitan subcutan verabreicht. Das Kaninchen Nr. 8 als Kontrolltier hat nur 0,5 ccm Ferronascin bekommen.

Nach der Blutentnahme waren die Tiere ziemlich matt und niedergeschlagen. Als der Zustand 2 Stunden nach der Operation sich nicht gebessert hat, wurden jedem Tier 3 ccm 1 %iger Kardiazol-Lösung subkutan verabreicht.

10 Stunden später, noch am gleichen Tag, wurde die erste Blutuntersuchung vorgenommen, wobei die Kaninchen folgende Werte zeigten:

Nr. 8	Hb. 7,50	Ery. 2,67 Mill.	Ret. 76
Nr. 9	7,72	2,78 "	95
Nr. 10	8,08	3,34 "	65

Am nächsten Tag bekamen die Kaninchen Nr. 9 Folinsäure, Nr. 10 Vitamin B 12 subkutan und zeigten folgendes Blutbild:

Nr. 8	Hb. 6,97	Ery. 2,30 Mill.	Ret. 71
Nr. 9	7,86	2,83 "	54
Nr. 10	8,81	3,15 "	93

Am 3. Tag bekamen die Kaninchen wieder dieselbe Dosis an Folinsäure und Vitamin B 12. Das Kontrolltier Nr. 8 erhielt nichts. Sie zeigten folgende Werte:

Nr. 8	Hb. 7,50	Ery. 2,87 Mill.	Ret. 79
9	7,50	3,03 "	120
10	7,72	3,12 "	65

Die folgenden Tabellen sollen den Verlauf der Blutwerte bei den einzelnen Kaninchen in den nächstfolgenden Tagen veranschaulichen.

Tabelle D

Aderlaßanämie

Kontrolltier Nr. 8

	1	2	3	4	5	8	10	12	14	16	19	22	Tage
Hb.	12,71	7,5	6,97	7,50	8,08	8,45	10,28	11,20	10,95	11,53	11,62	12,52	12,70

Ery.	5,94	2,67	2,30	2,87	2,50	2,97	3,53	4,41	4,73	4,16	4,51	5,03	5,75
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Ret.	24	76	71	79	92	107	83	82	56	50	63	29	22
------	----	----	----	----	----	-----	----	----	----	----	----	----	----

in % umgerechnet

Hb.	100	59	54,8	59	63	66,5	81	88,2	78,3	90,7	91,4	97,4	100
-----	-----	----	------	----	----	------	----	------	------	------	------	------	-----

Ery.	100	44,6	38,7	47,9	41,9	49,7	59,4	74,2	79,6	68,9	75,8	84,1	96
------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	----

Fortsetzung von

Tabelle D

Aderlaßanämie

Mit Folinssäure behandeltes Tier Nr. 9

	1	2	3	4	5	6	9	11	13	15	20	23	Tag
Hb.	12,33	7,72	7,86	7,50	8,0	8,75	10,3	11,4	11,67	11,95	12,35	12,68	12,75 g
Ery.	5,30	2,78	2,83	3,03	2,96	3,12	3,75	4,35	5,14	4,63	4,91	5,31	5,35 Mill
Ret.	27	95	54	120	80	128	105	52	45	43	35	28	26
in % umgerechnet													
Hb.	100	62,5	63,8	61	65	71	83,5	92,6	94,6	96,8	100	103	103,4
Ery.	100	52,3	53,4	57,1	55,9	58,8	70,8	81,9	91,8	87,4	92,6	100	101

Fortsetzung von

Tabelle D

Aderlaßämie

mit Vitamin B₁₂ behandeltes Tier Nr. 10

Tage

1 2 3 4 5 6 9 11 13 15 17 20 23

Hb. 12,89 8,08 8,81 7,72 7,59 9,03 10,12 11,53 12,87 12,73 12,98 12,89 12,98 12,90

Ery. 5,92 3,34 3,15 3,12 3,29 3,25 3,80 4,45 5,61 5,23 5,43 5,96 5,97 5,96

Ret. 23 65 93 65 92 145 114 81 45 41 40 26 19 21

in % umgerechnet

Hb. 100 62,7 68,3 59,8 58,9 70 78,5 89,4 100 97,9 100,7 100 100,7 100

Ery. 100 56,4 53,2 52,7 55,6 54,9 64,2 75,3 94,7 88,4 91,7 100,7 100,8 100,7

2a. Besprechung des Versuchsverlaufs bei Anwendung von Folinsäure und

Vitamin B 12.

Kontrolltier.

Bei einem Kaninchen Nr. 8 wurde in der angegebenen Weise eine Aderlaßanämie erzeugt, die zu einem maximalen Hb-Abfall von 45,2 % gegenüber dem Ausgangswert und zu einem maximalen Abfall der Erythrozytenzahl um 61,3 % gegenüber dem Ausgangswert führte. Die Regeneration trat ohne besondere Maßnahmen prompt ein. Nach 22 Tagen war ein Hämoglobinwert von 100 % wieder erreicht. Die Erythrozytenzahl betrug am 22. Tage 5,75 Mill. gegenüber 5,94 Mill. vor Versuchsbeginn.

Die Reticulozyten stiegen von 24 % bis auf 107 % am 5. Versuchstage an und verminderten sich danach kontinuierlich bis zu 22 % am 22. Tag.

Versuch mit Folinsäure bei Aderlaßanämie.

Beim Versuchstier Nr. 9 wurde eine Blutungsanämie erzeugt, die zu einem Hämoglobinabfall von 39 % und zu einem Maximalabfall der Erythrozyten um 47,7 % gegenüber dem Ausgangswert führte. Sofort nach dem Blutentzug wurde Folinsäure injiziert; an den zwei folgenden Tagen wurde dieselbe Dosis verabreicht. Die Hb-Kurve zeigt einen starken Anstieg; schon am 15. Tag war der Ausgangswert erreicht, während die Erythrozytenzahl, die vor dem Versuch 5,30 Mill. betrug, am 20. Tag ihren Ausgangswert erreichte.

Die Reticulozyten stiegen von 27 % auf 128 % am 6. Versuchstage an und verminderten sich danach bis zu 26 % am 23. Tag.

Versuch mit Vitamin B 12 bei Aderlaßanämie.

Beim Versuchstier Nr. 10 wurde eine Anämie erzeugt, die zu einem Hämoglobinabfall um 41,1 % und zu einem Erythrozytenabfall von 47,3 % führte. Sofort nach dem Blutentzug wurde Vitamin B 12 injiziert; an den 2 folgenden Tagen wurde dieselbe Dosis abermals verabreicht. Die Hb-Kurve zeigte daraufhin einen fast sprunghaften Anstieg. Bereits am 11. Tag war der Ausgangswert erreicht, während die Erythrozytenzahl, die vor dem Versuch 5,92 Mill. betrug, am 17. Tag mit 5,96 Mill. erreicht bzw. ganz gering überschritten war. Die Reticulozyten betrugen 23 % vor Versuchsbeginn. Der höchste Wert wurde am 5. Tag mit 145 erreicht, danach sank die Kurve allmählich wieder ab bis auf 21 % am 23. Untersuchungstag.

VI. Schlußfolgerungen aus den ermittelten Ergebnissen.

1. Bei der Bleianämie

Wir sehen bei sämtlichen Versuchstieren, daß bei Bleiverabreichung ein erheblicher Abfall des Hämoglobinwertes und der Erythrozytenzahl eintritt. Der niedrigste Hb-Wert wurde, zwischen dem 5. und 8. Tag von Versuchsbeginn an gerechnet, ermittelt; die tiefste Erythrozytenzahl wurde zwischen dem 5. und 8. Tag nach Versuchsbeginn festgestellt. Der Hb-Abfall schwankte zwischen 33 und 45 %; der prozentuale Erythrozyten-Abfall schwankte zwischen 35 und 49 %. Wie empfindlich das Blutbild auf Bleizufuhr reagiert, ersehen wir aus der Reaktion auf eine einmalige Bleiinjektion. Diese wurde bei den Versuchstieren Nr. 1, 2, 4, 5, 6, 7 jeweils am 11. Tag vorgenommen. Bei Nr. 1, 2, 5 und 6 fiel sowohl der Hämoglobinwert, als auch die Erythrozytenzahl vorübergehend etwas ab. Bei Nr. 4 wurde lediglich ein Absinken der Erythrozytenzahl beobachtet. Mit der Entwicklung einer Anämie kam es bei sämtlichen Fällen zu einem deutlichen Anstieg der Reticulozytenkurve, wobei Höchstwerte von zwischen 132 und 235 pro mille festgestellt wurden. Mit dem vorübergehenden flüchtigen Abfall der Blutwerte auf die 2. Bleiinjektion hin kam es zu einem abermaligen Reticulozytenanstieg, so daß die Reticulozytenkurve in der Regel einen doppelgipfiligen Verlauf nahm. Wir ersehen daraus, daß unter den Bedingungen einer experimentell erzeugten Bleianämie eine lebhafte Erythropoese einsetzt, deren feinstes Kriterium, wie eingangs dargestellt wurde, die Beobachtung der Reticulozytenzahlen darstellt.

Bei den Kontrollfällen war festzustellen, daß der Hämoglobin-Ausgangswert rascher erreicht wurde als der Ausgangswert der Erythrozyten. Bei dem Versuchstier Nr. 1 war der Hb-Ausgangswert am 22. Tag, bei dem Versuchstier Nr. 2 am 29. Tag, bei Nr. 3 am 28. Tag erreicht. Bei Nr. 1 war die Erythrozyten-Ausgangszahl am 39., bei Nr. 2 ebenfalls am 39. Tag, bei Nr. 3 (die nur 28 Tage beobachtet wurde) gleichfalls noch nicht am Ende der Beobachtungszeit erreicht. Das bedeutet, daß im Stadium der Regeneration die Anämie einen einwandfreien hyperchromen Charakter aufwies. Ich sehe hierin eine experimentelle Bestätigung der Beobachtungen von G a r t a, der 1949 darauf aufmerksam machte, daß die Bleianämie nicht immer hypochrom zu sein braucht, sondern gar nicht selten zum hyperchromen Typ gehört. Diese Beobachtungen stehen in einem Gegensatz zu denen von S c h m i d t und K e h l, die feststellten, daß bei Bleizufuhr der Hämoglobinabfall fortschreitet, obwohl die Erythrozytenkurve schon aufwärts geht. Diese Autoren führten aber eine

längerdauernde Bleizufuhr durch, so daß bereits die experimentellen Voraussetzungen kaum einen Vergleich zulassen.

Bei den Tieren, die mit Folinsäure behandelt wurden, zeigte die Hämoglobinkurve keinen wesentlich anderen Verlauf als bei den unbehandelten Tieren. Die Zunahme der Erythrozytenzahl war jedoch bei beiden Tieren ganz eindeutig stärker als bei den unbehandelten. Bei diesen Tieren war der Erythrozyten-Ausgangswert schon am 31. Tag annähernd bzw. am 39. Tag erreicht. Demgemäß finden wir bei den mit Folinsäure behandelten Tieren im Reparationsstadium eher das Bild der normochromen Anämie im Gegensatz zu den unbehandelten Fällen, wo, wie betont, der Typ der hyperchromen Anämie vorherrscht. Die Folinsäure übt also offensichtlich einen fördernden Einfluß auf die Bildung roter Blutzellen aus. Einen ähnlichen Erfolg teilt auch G a r t a mit, der eine schwere Bleianämie mit Folinsäure behandelte. Dabei kam es zu einem Anstieg von 58 % Hb auf 62 % Hb nach 35 Tage während der Therapie und zu einem Anstieg der Erythrozyten von 2.130.000 auf 3.210.000. Dem entspricht eine Normalisierung des Farbe-Indexes von 1,29 auf 0,9. Es muß allerdings prinzipiell beachtet werden, daß die Bedingungen im Experiment sich doch wesentlich von denen klinischer Beobachtungen unterscheiden, da bei letzteren durch chronische Bleizufuhr bekanntlich größere Bleidepots im Organismus entstehen, aus denen heraus unterschiedliche Bleimengen mobilisiert werden, die zu toxischen Erscheinungen Anlaß geben.

Bei Versuchstieren 5 und 6, die mit Vitamin B 12 behandelt wurden, ist die günstige Beeinflussung der Erythropoese noch eindrucksvoller; der stimulierende Einfluß auf die Blutbildung geht eindrucksvoll aus dem Verhalten der Reticulozytenzahlen hervor. Bei dem Tier Nr. 6 wurde ein Reticulozyten-Gipfel von 235 % am 8. Versuchstag beobachtet, bei Nr. 7 ein Gipfel von 152 % am 5. Versuchstag. Die Erythrozyten-Ausgangszahl war bei Nr. 6 am 26. Versuchstag annähernd erreicht, bei Nr. 7 annähernd am 34. Tag. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß das Tier Nr. 7 lediglich 3, Nr. 6 jedoch 4 Vitamin B 12-Injektionen erhalten hat. Bei dem Tier Nr. 6 wurde der Hämoglobin-Ausgangswert am 26. Tag, bei Nr. 7 am 34. Tag vollständig erreicht. Auch bei den mit Vitamin B 12 behandelten Versuchstieren laufen im Reparationsstadium die Erythrozyten und Hb-Kurven annähernd parallel. Auch bei diesen Tieren ist im Stadium der Regeneration das Bild der hyperchromen Anämie bei weitem nicht so eindrucksvoll zu sehen wie bei den unbehandelten Tieren. G a r t a nahm an, daß es bei der Blei-Intoxikation zu einer hyperchrom-makrozytären Anämie deshalb komme, weil das normal erzeugte und resorbierte C a s t l e'sche Prinzip von dem Blei in einer Weise geschädigt wird, wodurch es die normale Erythropoese aufrecht zu erhalten nicht imstande ist. Mit anderen Worten: es besteht also ein Mangel an hämopoetisch wirksamem C a s t l e'schem Prinzip.

Folgt man dieser Hypothese, dann ist es einleuchtend, daß parenterale Applikation von Vitamin B 12, in dem man ja allgemein den extrinsic-Faktor erblickt diesen toxisch bedingten Mangel behebt.

Von diesen Überlegungen ausgehend, scheint es lohnend, bei gewerblichen Bleivergiftungen einen Behandlungsversuch mit Folsäure oder Vitamin B 12 zu machen, der, ausreichend lang durchgeführt, möglicherweise doch imstande wäre, die Anämie günstig zu beeinflussen.

2. Bei der Aderlaßanämie.

Bei der Aderlaßanämie sind die Verhältnisse weniger kompliziert, insofern die toxische Beeinflussung des blutbildenden Systems und des peripheren Blutes nicht vorhanden ist.

Nach einem größeren Blutentzug von $\frac{1}{3}$ der Gesamtmenge kommt die Regeneration bei dem unbehandelten Tier prompt in Gang. Nach 22 Tagen ist der Hämoglobin-Ausgangswert vollständig und die Erythrozytenzahl nahezu vollständig wieder erreicht. Wir sehen als Kriterium der in Gang kommenden Erythropoese einen prompten Anstieg der Reticulozytenzahl mit einem Gipfel von 107 %, der am 5. Tag erreicht wird. Bei dem Versuchstier Nr. 9, das an 3 aufeinander folgenden Tagen Folsäure erhielt, wurde bereits nach 15 Tagen der frühere Hämoglobinwert und nach 20 Tagen der Erythrozyten-Ausgangswert wieder erreicht. Der Gipfel der Reticulozyten-Kurve lag am 6. Tag mit 128 %.

Beim Versuchstier Nr. 10 wurde an 3 aufeinander folgenden Tagen Vitamin B 12 gegeben. Hier war schon am 11. Tag der Hämoglobin-Ausgangswert erreicht und am gleichen Tag der Erythrozyten-Ausgangswert annähernd, am 17. Tag vollständig erreicht. Der Reticulozyten-Gipfel betrug 145 % und lag am 5. Tag.

Wir sehen also, daß sowohl unter der Folsäure-Therapie, als auch auf Vitamin B 12-Zufuhr die Regeneration rascher abläuft, als bei unbehandelten Fällen. Ein wesentlicher Wirkungsunterschied zwischen Vitamin B 12 und Folsäure ist nicht festzustellen, es sei denn, daß man die etwas höhere Reticulozytenzahl bei dem mit Vitamin B 12 behandelten Tier als Zeichen einer stärkeren Stimulierung der Markttätigkeit unter der Einwirkung dieses Medikaments betrachten will.

Da eine ungenügende Zufuhr von Folsäure bzw. eine mangelhafte enterale Entstehung bei diesen Fällen nicht vorliegt, und auch die Bildung und Resorption des Castle'schen Ferments, sowie dessen hämopoetische Wirkung nicht beeinträchtigt sind, kann die raschere Regeneration der Blutungsanämie nach Zufuhr der genannten Substanzen nur so gedeutet werden, daß vorübergehend ein relativer Mangel dieser Stoffe besteht, der durch Zufuhr derselben beseitigt wird. Auch unter diesem Gesichtspunkt sollte bei stärkeren Blut-

verlusten eine Beschleunigung der Blutregeneration durch Folinsäure oder besser noch durch Vitamin B 12 versucht werden.

VII. Zusammenfassung.

Durch Bleiinjektion wurde bei Kaninchen eine Anämie erzeugt; auf die im Schrifttum diskutierten Ursachen der Anämie-Entstehung wurde hingewiesen. Es wurde festgestellt, daß die Anämie unbehandelt im Regenerationsstadium hyperchromen Charakter aufweist. In Anlehnung an G a r t a wurde die Ursache hierfür erörtert. Durch Zufuhr von Folinsäure und Vitamin B 12 gelingt es, die Länge des Regenerationsstadiums abzukürzen und den hyperchromen Charakter der Anämie durch stärkere und schnellere Zunahme der Erythrozyten mehr im Sinne einer normochromen Anämie zu beeinflussen. Daraus wird die Folgerung gezogen, daß unter klinischen Bedingungen die Behandlung der Bleianämie mit Folinsäure sowohl, als auch mit Vitamin B 12 von günstigem Einfluß sein dürfte.

Bei der Blutungsanämie gelingt es ebenfalls, durch Folinsäure bzw. durch Vitamin B 12-Zufuhr die anämische Phase abzukürzen. Dabei scheint Vitamin B 12 der Folinsäure hinsichtlich der Wirksamkeit etwas überlegen zu sein.

Literaturverzeichnis

1. Abderhalden: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden
Abt. IV Teil 3 1924
2. Angier: Amer.J.med.Sci. 103, 1945, 667
Science 102, 1945, 227
3. Charkey und Drill: Proc.Soc.exper.Biol.a.Med.(Am.) 73, 921, 1950
4. Darby, Jones u. Johnson: J.Amer.Med.Ass. 1946 130, 780
5. Doan: Amer.J.med.Sci. 212, 267. 1946
6. Garta: Wiener klin.Wochenschrift 1949, S. 611
7. Hesse und Flöter: Klin.Wochenschrift 1951, S. 232
8. Heilmayer und Begemann: Handbuch der Inneren Medizin II. Band
Blut und Blutkrankheiten 1951
9. Hesse und Marquardt: Klin. Wochenschr. 1952, S. 1100
10. Hirschfeld: Neue Deutsche Klinik II. Band 1928 S. 184
11. Humperdinck und Rummel: Ärztl. Forschung 1947, S. 157
12. Klima und Seyfried: Fol.haemat.(D) 57 (1937) 283
13. Knoll: Ärztl.Forschung 15/16, 233. 1948
14. Pribilla und Achenbach: Ärztl. Wochenschrift (1949) S. 611
15. Rickes, Brink, Wood und Folkes, Science 107, 396. 1948
16. Rosegger: Klin. Wochenschrift 1936. 158
17. Schmidt und Kehl: Arch.Hygiene (D) 98, 1927
18. Schulten: Lehrbuch der klin.Hämatologie. 1948
19. Schulten und Pribilla: Deutsch.med.Wochenschrift 1951. S. 78
20. Smith: Nature 161, 638, 1948
21. Tausk: Schweiz.Med.Wochenschr.1951, S. 275

Es ist mir ein aufrichtiges Bedürfnis, dem Referenten der Arbeit, Herrn Professor Dr. F. H i l d e b r a n d t, für die Überlassung des Themas, die vielfachen Anregungen und Hinweise, sowie für die stets gewährte Unterstützung zu danken.

Der Dank gilt auch gleichzeitig den Assistentinnen des Pharmakologischen Institutes, vor allem Fräulein B e c k e r.

Lebenslauf.

Ich, Moses Boruchowicz, wurde am 17. März 1923 als Sohn des Fabrikbesitzers David Boruchowicz und dessen Ehefrau Margolis, geb. Losch, in Hancewicze (Polen) geboren. 6 Jahre besuchte ich die hebräische Schule in Hancewicze. Anschließend war ich Schüler des Gymnasiums in Lwow. Dort erhielt ich am 20. Juni 1940 das Reifezeugnis.

Während des Rußlandkrieges war ich inhaftiert. 1946 kam ich nach dem DP-Lager in Wetzlar.

Im Wintersemester 1947/48 begann ich mein Studium an der Landwirtschaftlichen Fakultät der Justus Liebig-Hochschule in Gießen. Nach dem 3. Semester wechselte ich zur Veterinär-Medizinischen Fakultät über, wo ich im April 1950 die Tierärztliche Vorprüfung und nach weiteren 5 klinischen Semestern am 9. Februar 1953 die Tierärztliche Prüfung bestand.

